

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2004 年 12 月 29 日 (29.12.2004)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 2004/113525 A1

(51) 国際特許分類: C12N 15/00, 9/12, C12P 19/02, 19/04

(74) 代理人: 山本 秀策, 外(YAMAMOTO, Shusaku et al.);  
〒5406015 大阪府大阪市中央区城見一丁目 2 番 2 7 号  
クリスタルタワー 15 階 Osaka (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2004/008362

(22) 国際出願日: 2004 年 6 月 15 日 (15.06.2004)

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:  
特願 2003-173972 2003 年 6 月 18 日 (18.06.2003) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 江崎グリコ株式会社 (EZAKI GLICO CO., LTD.) [JP/JP]; 〒5558502 大阪府大阪市西淀川区歌島 4-6-5 Osaka (JP).

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 柳瀬 美千代 (YANASE, Michiyo) [JP/JP]; 〒6570036 兵庫県神戸市灘区桜口町 5 丁目 1-1-6 03 Hyogo (JP). 高田 洋樹 (TAKATA, Hiroki) [JP/JP]; 〒6570024 兵庫県神戸市灘区楠丘町 6 丁目 5-2 0-3 04 Hyogo (JP). 藤井 和俊 (FUJII, Kazutoshi) [JP/JP]; 〒5640027 大阪府吹田市朝日町 1 3-8-4 06 Osaka (JP). 鷹羽 武史 (TAKAHA, Takeshi) [JP/JP]; 〒6511233 兵庫県神戸市北区日の峰 4-7-1 6 Hyogo (JP). 栗木 隆 (KURIKI, Takashi) [JP/JP]; 〒5650831 大阪府吹田市五月が丘東 8 番 C-5 1 2 Osaka (JP).

添付公開書類:

- 国際調査報告書
- 電子形式により別個に公開された明細書の配列表部分、請求に基づき国際事務局から入手可能

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: METHOD OF HEAT-STABILIZING  $\alpha$ -GLUCAN PHOSPHORYLASE (GP)

(54) 発明の名称:  $\alpha$ -グルカンホスホリラーゼ (GP) の耐熱化方法

(57) Abstract: Heat-stabilized  $\alpha$ -glucan phosphorylase obtained by modifying natural  $\alpha$ -glucan phosphorylase; and a method of preparing the heat-stabilized  $\alpha$ -glucan phosphorylase. The natural  $\alpha$ -glucan phosphorylase is derived from a plant. The heat-stabilized  $\alpha$ -glucan phosphorylase has an amino acid residue different from that of natural  $\alpha$ -glucan phosphorylase at at least one position selected from the group consisting of position corresponding to 4-position of motif sequence 1L or 1H, position corresponding to 4-position of motif sequence 2 and position corresponding to 7-position of motif sequence 3L or 3H, and the enzymatic activity at 37°C of the heat-stabilized  $\alpha$ -glucan phosphorylase after being heated in a 20 mM citric acid buffer (pH 6.7) at 60°C for 10 min is 20% or more of the enzymatic activity at 37°C of the heat-stabilized  $\alpha$ -glucan phosphorylase before being heated.

(57) 要約: 天然の  $\alpha$ -グルカンホスホリラーゼを改変して得られる耐熱化  $\alpha$ -グルカンホスホリラーゼおよびこの耐熱化  $\alpha$ -グルカンホスホリラーゼの調製方法が提供される。天然の  $\alpha$ -グルカンホスホリラーゼは、植物由来であり、この耐熱化  $\alpha$ -グルカンホスホリラーゼは、モチーフ配列 1 L もしくは 1 H 中の 4 位に相当する位置、モチーフ配列 2 中の 4 位に相当する位置、またはモチーフ配列 3 L もしくは 3 H 中の 7 位に相当する位置からなる群より選択される少なくとも 1 つの位置において、天然の  $\alpha$ -グルカンホスホリラーゼとは異なるアミノ酸残基を有し、かつこの耐熱化  $\alpha$ -グルカンホスホリラーゼを 20 mM クエン酸緩衝液 (pH 6.7) 中で 60°C で 10 分間加熱した後の耐熱化  $\alpha$ -グルカンホスホリラーゼの 37°C における酵素活性が、該加熱前の耐熱化  $\alpha$ -グルカンホスホリラーゼの 37°C における酵素活性の 20% 以上である。

WO 2004/113525 A1